

Sven Åke Hedström

Kronisk stafylokockosteomyelit
med speciell hänsyn till
bakteriologi, serologi samt antibakteriell
långtidsbehandling och prognos

Från Institutionen för Infektionssjukdomar (Prefekt: Professor Karl Emil Thulin), Universitetet i Lund.

Sven Åke Hedström

Kronisk stafylokockosteomyelit
med speciell hänsyn till
bakteriologi, serologi samt antibakteriell
långtidsbehandling och prognos

LUND 1974



TEXTGRUPPEN
I UPPSALA AB 1974

Föreliggande arbete utgör en sammanfattning av nedanstående artiklar:

- I. Hedström, S.Å. General and local antibiotic treatment of chronic osteomyelitis.
Scand J Infect Dis 1:175—180, 1969.
- II. Hedström, S.Å. och Kronvall, G. Phage group, lipase activity and protein A content of *Staphylococcus aureus* strains from cases of chronic osteomyelitis.
Scand J Infect Dis 4:203—207, 1972.
- III. Hedström, S.Å. och Kamme, C. Antibodies against staphylococcal bacteriophages in human sera. II. Assay of antibodies in exacerbation and regression of chronic staphylococcal osteomyelitis.
Acta Path Microbiol Scand B 81:749—752, 1973.
- IV. Hedström, S.Å. The prognosis of chronic staphylococcal osteomyelitis after long-term antibiotic treatment.
Scand J Infect Dis, 1974. I tryck.

Dessa artiklar kommer i fortsättningen att refereras med ovanstående romerska siffror.

Innehåll

FÖRORD	7
INTRODUKTION	9
Osteomyelitens förekomst och patogenes	9
KRONISK OSTEOMYELIT	10
Definition, klinisk bild, patologi och radiologisk diagnostik	10
Bakteriologi	11
Immunologi och serologi	12
Prognos och behandling	13
PROBLEM	15
FÖRFATTARENS UNDERSÖKNINGAR	15
MATERIAL, METODER OCH RESULTAT	16
Egenskaper hos stafylokocker isolerade vid kronisk osteomyelit	16
Serologiska undersökningar vid kronisk stafylokockosteomyelit	17
Långtidsbehandling med antibiotika vid kronisk stafylokockosteomyelit	17
Analys av recidiv efter långtidsbehandling	19
DISKUSSION	20
KONKLUSIONER	24
SUMMARY	26
REFERENSER	28



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552415_0019

Förord

Detta arbete har genomförts med hjälp och stöd av flera medarbetare. Till dessa vill jag framföra ett varmt tack och vänder mig särskilt till:

Min chef, professor Karl Emil Thulin, som introducerat mig i ämnet och visat stort intresse för uppgiften, och övriga kollegor på Infektionskliniken, Lasarettet, Lund.

Professor Rune Grubb, som välvilligt ställt resurser till förfogande på Institutionen för Medicinsk Mikrobiologi, Universitetet, Lund.

Mina medförfattare, docent Carl Kamme och docent Göran Kronvall, för värdefulla diskussioner och kritisk granskning av manuskript.

Sekreterare Gun Mårtensson för idogt arbete med utskrivning av manuskript.

Docent Per Belfrage, Institutionen för Medicinsk Kemi, Universitetet, Lund, fru Anita Hänninen och fru Gertie Westerlund har varit behjälpliga med tekniskt arbete.

Manuskripten har översatts eller reviderats av Mr W.F. Salisbury, Mr L. James Brown och fru Mary Leonard.

Statistisk rådgivare har varit civilingenjör Carl Johan Lamm, Avdelningen för Matematisk Statistik, Universitetet, Lund.

Introduktion

Osteomyelitens förekomst och patogenes

Synbarligen har skelettinfektioner drabbat vertebrater redan tidigt i evolutionen. I fynd av skelettdelar från den köttätande *Edaphosaurus*, som levde under permperioden, har man iakttagit tecken på genomgången infektion (Heugen 1970). I modern tid förekommer hematogen osteomyelit tämligen sällan hos husdjur och fåglar (Obel 1969). I undersökta fall av sjukdomen har flera agens isolerats, bl a *Staphylococcus aureus*, som påträffats hos grisar och unga gäss och ankor, vidare *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium pyogenes* och *Mycobacterium*-arter. Kronisk spondylit orsakad av *Erysipelothrix rhusiopathiae* kan uppstå hos svin (Hansen 1969). Vid öppna frakturer hos hästar kan streptokocker ge osteomyelit, som inte utgör något större terapeutiskt problem (Tufvesson 1973).

Hos *Homo sapiens* är osteomyelit betydligt vanligare. Hippokrates beskrev (Chadwick, Mann 1950) en sjukdomsbild hos människan, som väl överensstämmer med osteomyelit. Chassaignac redogjorde 1854 utförligt för akut osteomyelit med dess då kända symtomatologi, diagnostik, patologi, behandling och prognos. Osteomyelit var en allvarlig, progredierande sjukdom med stor risk för septisk artrit. Amputation var oftast nödvändig behandling. Demme (1862) förordade en avvaktande och konservativ kirurgisk behandling. Att osteomyelit var en infektiös sjukdom framstod allt klarare under följande decennier. Lücke (1874) rapporterade 24 egna fall av osteomyelit, varav 11 dog till följd av denna sjukdom. Oftast var dödsorsaken "pyemi". Experimentella studier ledde fram till att Rosenbach (1878) fastslog att osteomyelit var en infektionssjukdom och att *Staphylococcus pyogenes* kunde orsaka den.

Man fann att recidiv av infektionen uppträdde i de tidigare angripna områdena flera år efter debuten (Volkmann 1875, Garré 1893) och Kocher (1878) präglade uttrycket kronisk osteomyelit. I anslutning till en sammanställning av tidigare litteratur och diskussion av egna fall betonade Kraske (1887) att osteomyelit var en infektionssjukdom, vanligen orsakad av *Staphylococcus pyogenes aureus* och ibland också av streptokocker och baciller. Han rapporterade med erfarenhet av 6 fall att sjukdomen kunde recidivera i vuxen ålder och vid ett recidiv hade han isolerat *Staphylococcus aureus*. Garré (1893) framhöll det märkliga i att recidiv uppträdde i en ålder då primär akut osteomyelit var sällsynt.

Rosenbachs (1878) experimentella undersökningar över osteomyelitens patogenes fortsattes av Lexer (1894), som injicerade olika doser av *Staphylo-*

coccus aureus intravenöst på kaniner. Flertalet djur dog i en fulmant infektion, medan en del av de överlevande utvecklade infektiösa härdar i skelettet. Sambandet mellan "pyemi" och osteomyelit hade redan Kraske (1887) insett. Vid fortsatta experiment övergick Lexer (1896) till att injicera mindre mängder av *Staphylococcus aureus* på kaniner och efter ett stadium påminnande om akut osteomyelit avtog symtomen och kaninerna föreföll friska. De slaktades efter hand och upp till 1/4 år kunde osteomyelitförändringar iakttagas, bl a hade sekvestrar bildats.

Grundmann (1953) undersökte traumats betydelse för patogenesen vid osteomyelit, vilket hade diskuterats tidigare (Starr 1922). Grundmanns uppfattning, att trauma följt av en hyperergisk reaktion skulle vara väsentligt för uppkomsten av osteomyelit, har kritiserats av Holland (1972).

Waldvogel o. a. (1970) har sammanfattat den akuta hematogena osteomyelitens uppkomst hos den växande individen. Kärланatomien med ändartärer och kapillärslangor, vars väggar saknar eller innehåller inaktiva fagocyterande celler, anses vara betydelsefull för bakteriernas möjlighet att angripa just metafysen (Hobo 1922).

Med ökande antal krigsskador och trafikolyckor har frekvensen av posttraumatisk osteomyelit tilltagit, medan den hematogena typen minskat i antal (Knight o. a. 1945, Kuner o. a. 1971). Som komplikation till ortopediska operationer har osteomyelit förekommit i flera material också under senare år (Edwards 1965, Derian o. a. 1966, Lidgren o. a. 1972) trots förbättrade kirurgiska metoder och större uppmärksamhet på hygien.

Waldvogel o. a. (1970) har på grundval av patogenesen delat upp osteomyelit i 3 grupper: hematogen osteomyelit, osteomyelit sekundär till ett angränsande infektionsfokus och osteomyelit till följd av perifer kärlsjukdom.

Kronisk osteomyelit

Definition, klinisk bild, patologi och radiologisk diagnostik

Till grund för definitionen akut och kronisk osteomyelit ligger det kliniska förloppet och de patologisk-anatomiska förändringarna (Waldvogel o. a. 1970). Övergången från akut till kroniskt stadium sker smygande och en skarp gräns är svår att iakttaga. Vid posttraumatisk och postoperativ osteomyelit är gränsen mellan akut och kroniskt stadium mer utplånad än vid osteomyelit av hematogent ursprung. Den ur klinisk synpunkt mest användbara definitionen på kronisk osteomyelit är: en sjukdom kännetecknad av en initial episod av skelettinfektion, som recidiverar efter subjektivt och objektivt besvärsfria intervall eller övergår i ett långdraget tillstånd med objektiva tecken på infektion

i form av inflammatoriska förändringar och/eller sekretion från fistelgångar.

Den kliniska bilden vid kronisk osteomyelit avviker från akut osteomyelit genom att en allmän påverkan saknas eller är obetydlig vid den kroniska formen (Calandruccio 1971). De lokala symtomen överväger och kan utgöras av en inflammation utan penetration av mjukdelarna eller en secernerande fistel med eller utan inflammatorisk reaktion i kringliggande mjukdelar. Särskilt vid exacerbationer utan fistelbildning förekommer feber och smärttillstånd.

Den patologisk-anatomiska bilden utmärkande för akut osteomyelit är en utbredd nekros i benet med minskat antal osteocyter i lakunerna och förekomst av stort antal polynukleära leukocyter. Vid kronisk osteomyelit är resorberad benvävnad ersatt av fibrös vävnad med förekomst av osteoblaster i kvarvarande ben. I den fibrösa vävnaden är celler av kronisk inflammatorisk typ (lymfocyter, plasmaceller, makrofager) inlagrade och de polynukleära leukocyterna är få (Lichtenstein 1970). De patologisk-anatomiska förändringarna är emellertid inte distinkta vid akut och kronisk osteomyelit utan övergångsformer finns (Waldvogel o.a. 1970).

Diagnostiska hjälpmedel vid kronisk osteomyelit är röntgenundersökning och scintimetri. Vid aktiv kronisk osteomyelit ses på röntgenbilden en förtjockad cortex och periosteal bennybildning i flera lager (Teplick o. a. 1968). I långa rörben är skaftet vidgat och områden av lysis i skelettet är delvis oblittererade av bennybildning. Sekvestrar kan ofta iakttas. Vid inaktiv kronisk osteomyelit är den corticala förtjockningen dominerande och områden med ökad bentäthet (scleros), defekter och lysis kan iakttas. I aktivt stadium av kronisk osteomyelit ser man vid scintimetri ett ökat upptag av ^{85}Sr (Bauer, Wendeberg 1959; Dymling, Wendeberg 1965), $^{87\text{m}}\text{Sr}$ (Amann o. a. 1971) och $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Mankin o. a. 1973) i skelettet. Denna metodik är emellertid inte utslagsgivande enbart vid infektion utan vid återuppbyggnad efter flera skelettbrytande processer.

Bakteriologi

Den dominerande mikroorganismen vid akut hematogen osteomyelit är *Staphylococcus aureus* (Calandruccio 1971, Reploh 1965), men övriga pyogena bakterier, *mycobacterium*, svampar, virus och parasiter kan förekomma. En ökning av frekvensen osteomyelitfall orsakade av gramnegativa bakterier har noterats under senare år (Waldvogel o. a. 1970). Också vid kronisk osteomyelit är *Staphylococcus aureus* vanligast och förekommer i 80–90 % (Reploh 1965, Hierholzer o.a. 1967) och då särskilt vid recidiv av hematogen osteomyelit (Richter 1968), medan inslaget av gramnegativa bakterier är större vid exogen kronisk osteomyelit. Försök har gjorts att upptäcka egenskaper hos

Staphylococcus aureus isolerade från osteomyelit. Stammar från både akut (Garré 1885, Jessen o. a. 1969) och kronisk (Blair 1937, Pillich o. a. 1970) osteomyelit har undersökts. Blair indelade stafylokocker i serologiska grupper, som skilde sig i toxigenitet, och fann att flera osteomyelitstammar hamnade i gruppen utan exotoxinproduktion. Pillich och medarbetare isolerade stammar som visade egenskaper som brist på gult pigment, ringa hemolys, resistens mot flertal kemoterapeutika, resistens mot polyvalenta fager m.m.

Immunologi och serologi

Trots att människan har hög naturlig resistens mot *Staphylococcus aureus* (Elek 1959) är immunologin vid stafylokockinfektioner komplicerad och motsägelsefull (Ekstedt 1972).

Forssman (1936 a) iakttog att kaniner immuniserade med formalinbehandlade stafylokocker utvecklade progredierande infektioner i kotor efter intravenös injektion av levande stafylokocker. Detta inträffade trots att kaninernas serum hade skyddseffekt mot annars letala stafylokockinfektioner hos icke immuniserade, normala djur (Forssman 1936 b). Lång tid efter inokulationen av stafylokocker på immuniserade kaniner kunde bakterierna odlas fram från de angripna kotkropparna (Forssman 1938). I ett fall av human akut osteomyelit fann Forssman (1938) en antistafylolysintiter på 5 IU/ml. Serum från patienten hade skyddseffekt mot fatal stafylokockinfektion på icke immuniserade kaniner. Hos en patient med recidiv av osteomyelit var antistafylolysintitern 0.

Antistafylolysinets betydelse som immunologisk faktor har diskuterats livligt. Parish o. a. (1934) och Dolman (1935) fann god effekt av toxoidbehandling vid osteomyelit samtidigt som antitoxintitern ökade, men Forssman (1937) och Blair (1937) var kritiska mot denna uppfattning. En del förhoppningar knöts till antistafylolysin som ett diagnostiskt test (Parish o. a. 1934). Upprepade undersökningar (Blair, Hallman 1935, Buchman 1937, Lack 1957, Lack, Towers 1962) har inte kunnat konfirmera resultaten, utan de allra flesta patienter har normala antistafylolysintitrar vid exacerbation av kronisk osteomyelit. Provet anses dock vara av nytta vid djupa skelettinfektioner, där inga andra möjligheter att fastställa etiologin finns (Lack, Shelswell 1955). Andra serologiska diagnostica har prövats, bl a har man funnit höga titrar mot leukocidin i 71 % av osteomyelitfall (Towers 1961). Med modifierad metod och användning av renare antigen enligt Woodin (1959) erhöles liknande resultat men lägre titrar.

Vid serologisk diagnostik av osteomyelit fann Lack o. a. (1962) det bästa resultatet vid kombinerad undersökning av antikroppar mot α -hemolysin och

leukocidin, som var förhöjda i ca 50 % av osteomyelitfall. Materialet var inte uppdelat i akut och kronisk osteomyelit. Däremot fann Mudd o.a. (1965) att antikroppshalten mot α -hemolysin och leukocidin var låg vid kronisk stafylokockosteomyelit med secernerande fistlar. Patienter med kronisk stafylokockosteomyelit saknar opsoniserande aktivitet i serum till skillnad från fall av skelettinfektion orsakad av gramnegativa bakterier (Williams o.a. 1969). Vid experimentell osteomyelit på kaniner var titern av opsoniserande antikroppar hög i akut skede, men sjönk till pre-infektiös nivå efter 5 månader fastän tecken på aktiv infektion förelåg (Nickerson o.a. 1970).

Prognos och behandling

Alltsedan Chassaignac (1854) i sin översikt meddelade att amputation av den sjuka kroppsdelens var den enda tänkbara terapin i svåra fall av osteomyelit har en oöverskådlig mängd rapporter över behandling av osteomyelit publice-rats. Särskilt kronisk osteomyelit har rönt stort intresse. Ett brett spektrum av behandlingsmetoder från exempelvis användning av fluglarver, "maggots", (Baer 1931) över kirurgi och antibiotika till den mest moderna, hyperbar syrgas (Perrins o.a. 1965, Depenbusch o.a. 1972), vittnar om otaliga försök att bemästra svårigheten att slutgiltigt läka en kronisk osteomyelithård.

Dunkmann (1939) sammanfattade behandling av osteomyelit och prognos före antibiotikaeran. Radikal kirurgisk terapi ansågs bäst, ändå förelåg risk för recidiv. Den samlade mortaliteten för akut och kronisk osteomyelit var 10–15 % i början av detta sekel. Efter antibiotikas tillkomst sjönk mortalite-ten markant och resultatet av de kirurgiska åtgärderna förbättrades (Blanke 1952). Operationerna har lett till goda resultat, men har ofta varit omfattande och krävande för både patient och sjukvård (Richter 1968, Kuner o.a. 1971). Terapisvikt och recidiv i hög procent har också förekommit (Richter 1968, Waldvogel o.a. 1970, West o.a. 1970). Den nutida kirurgiska behandlingen följer i stort sett gamla principer och består i utrymmning av sekvestrar, utskrapning, avlägsnande av Brodie-abscesser, radikal utrymning och utklädning av bedefekter med muskulatur och hud (Calandruccio 1971, West o.a. 1970).

De kirurgiska åtgärderna har tidvis kompletterats med spolning av såren, den första rapporten är daterad 1917 (Dumas o.a.). Efter tillkomsten av kemoterapeutika och antibiotika sattes sådana till spolvätskan. Man använde först penicillin (Smith-Petersen o.a. 1945) och för att öka penicillinets effekt tillsatte man ett detergentium (Grace o.a. 1950). Tanken bakom lokalbehand-ling har varit att uppnå en högre antibiotikakonzentration i hårdens än som tycks vara möjligt vid en allmän antibiotikabehandling, vid vilken diffusionen till infektionshården försvåras av en ischemi (Frost o.a. 1960).

Mitra och Grace (1957) utvecklade ett slutet system av spolning och sugning i osteomyelitområdet efter utrymning av härden och fann en läkningsfrekvens på 65–70 % vid kronisk osteomyelit. Denna metod, som endast kan utnyttjas i samband med kirurgiska ingrepp, har fått fortsatt användning med gynnsamma resultat (Dombrowski, Dunn 1965, Compere o.a. 1967, Kelly o.a. 1970).

För att kunna använda toxiska antibiotika i hög koncentration i osteomyelithärden utan alltför stor risk för generella biverkningar införde Ryan o.a. (1959) regional perfusion vid kronisk osteomyelit i extremiteterna. Metoden används ännu, men läkningseffekten har varit låg, Hurley o.a. (1966) rapporterade 50 %. Komplikationer i form av arteriospasm med gangrän tvingade till amputation i 3 fall. Huruvida allmän antibiotikabehandling pågick samtidigt med perfusion framgår inte. Organ (1971) läkte 2/3 av sina osteomyelitfall med regional perfusion, men framhöll komplikationsrisken. Bäst resultat med metoden fann Jones o.a. (1973) vid osteomyelit med kortare duration än 12 månader. Alla författare är eniga om att metoden skall användas i utvalda fall. Indikationerna för regional perfusion skall vara framgångslös intensiv allmän och lokal terapi och amputation skall vara enda alternativet.

I 8 fall av kronisk osteomyelit har venös antibiotikaperfusion och avstängning av extremiteten med tourniquet med syfte att ge höga lokala koncentrationer varit fördelaktig (Finsterbush, Weinberg 1972).

Efter några års användning av penicillin vid skelettinfektioner var erfarenheten att preparatet inte hade så god effekt vid kronisk osteomyelit som vid akut (Lettow 1950, Wissel 1950). Emellertid var doserna mycket små jämfört med våra dagars. Man fann också ofta recidiv efter utsättning av antibiotika och då senast 2 veckor efter avslutad behandling (Wissel 1950). Resistens mot penicillin började noteras och man var nödsakad att övergå till mera toxiska preparat som streptomycin vid osteomyelit (Jeffery o.a. 1949).

Rapporter om antibiotikabehandling vid kronisk stafylokockosteomyelit är sparsamma fram till senare år, när mindre toxiska preparat verksamma mot penicillinresistenta stafylokker började vinna mark. Betecknande nog får antibiotikabehandling litet utrymme vid sidan av kirurgisk metodik (Axhausen 1966). Nyare vägar för antibiotikabehandling prövades emellertid och intraarteriella antibiotikainjektioner i den sjuka kroppsdelen, långtidsbehandling och försök att luckra upp fibrin kring härden med enzymer gav vissa resultat (Mappes, Volk 1963).

I större översikter av osteomyelit- och stafylokockinfektioner från senare år framhålles vikten av en kombinerad kirurgisk och antibakteriell terapi vid kronisk osteomyelit (Richter 1968, Waldvogel o.a. 1970, Eickhoff 1972). Tillkomsten av potenta antistafylokockpreparat har minskat behovet av kirurgiska åtgärder (Rowling 1970). Penicilliner anses fortfarande vara förstahands-

preparat (Eickhoff 1972) och penicillinastabila isoxazolylderivat har visat sig värdefulla vid kronisk osteomyelit (Bell 1968, Holstein o.a. 1972). Andra preparat som prövats med framgång i stora serier är fusidinsyra (Arens o.a. 1966) och lincomycin (Holloway 1965, Hnatko 1967, Paus 1969).

Kriterier för val av antibiotika för behandling av kronisk osteomyelit har uppställts av Klemm (1967), som framhåller god penetrationsförmåga, aktivitet mot stafylokocker, frånvaro av allvarliga biverkningar och lämplighet för peroral långtidsbehandling.

Problem

Förutom i skelett och benmärg är svårbehandlade och recidiverande stafylokockinfektioner lokaliserade till huden. Infektionernas kroniska karaktär avspeglar möjligheten av att *Staphylococcus aureus* anpassar sig till dessa lokalisationer.

Diagnostik av kronisk osteomyelit erbjuder i regel inga svårigheter. Svårt kan vara att fastställa etiologiskt agens samt bedöma aktivitet av osteomyeliten och uppsätta indikationer för behandling, som ofta måste vara planerad speciellt för individen med inslag av både antibakteriell och ortopedisk-kirurgisk terapi.

Kronisk osteomyelit, som övervägande är en stafylokockinfektion, har länge utgjort ett terapeutiskt problem. Tillkomsten av antibiotika särskilt riktade mot stafylokocker har förbättrat situationen, men kronisk osteomyelit har i många fall varit svår att helt läka ut. Radikala kirurgiska metoder har varit nödvändiga. Upprepade recidiv har varit besvärande för patienten och öppetstående fistlar har utgjort en smittkälla för omgivningen.

Författarens undersökningar

I föreliggande arbete diskuteras kronisk stafylokockosteomyelit huvudsakligen ur infektiös och kliniskt-bakteriologisk synvinkel. Ortopediska och kirurgiska åtgärder berörs endast summariskt där de har betydelse för sammanhanget och för behandlingen av de fall som ingår i undersökningen.

Med utgångspunkt från problemställningarna har följande delfrågor särskilt tagits upp till diskussion:

1. Egenskaper hos stafylokocker som isolerats vid kronisk osteomyelit (II).
2. Serologisk diagnostik vid exacerbation av stafylokockosteomyelit (I+III+IV).
3. Långtidsbehandling med antibiotika i hög dos vid kronisk stafylokockosteomyelit, kompletterad med lokal antibiotikabehandling och kirurgiska åtgärder (I+IV).
4. Analys av recidiv efter långtidsbehandling (IV).

Material, metoder och resultat

Materialet består av totalt 62 fall av kronisk stafylokockosteomyelit. Undersökningen har pågått under en tidsrymd av ca 8 år. I de separata undersökningarna, som redovisas, har i regel delar av materialet ingått.

1. Egenskaper hos stafylokocker isolerade vid kronisk osteomyelit (II).

50 stafylokockstammar isolerade från fall av kronisk osteomyelit fagtypades och indelades i faggrupperna I, II och III. 3 stammar var inte typbara. I hela materialet dominerade faggrupp I med 48 %. Till faggrupp II och III hörde 16 resp. 30 %. Denna fördelning avviker inte från ett heterogent material av stafylokockstammar mer än att i det senare finns större proportion blandade fagtyper från mer än en faggrupp och likaså fler icke-typbara. Vid uppdelning med hänsyn till patogenes (osteomyelit av hematogen eller posttraumatiskt ursprung) framkom att stammar från faggrupp III saknades i fall av kronisk hematogen osteomyelit. Faggruppsmönstret vid kronisk posttraumatisk osteomyelit var detsamma som för stafylokocker i allmänhet.

40 osteomyelitstammar testades på lipolytisk aktivitet mot Tween 80, som spjälkades av 36 stammar. Ingen signifikant skillnad fanns vid jämförelse med stammar isolerade från andra infektioner. Av 9 stammar från kronisk osteomyelit med hematogen genes var alla Tween 80-positiva. Det låga antalet tillåter ingen statistisk jämförelse med septikemistammar som var Tween 80-positiva i 68 %.

16 stafylokockstammar isolerade vid exacerbation av kronisk osteomyelit undersöktes på produktion av protein A. Mängden varierade från 3 till 100 % av mängden protein A producerad av referensstammen Cowan I. Jämfört med kvantitativa data från testning av 215 stafylokockstammar från andra infektioner kunde ingen skillnad märkas i protein A produktion. 14 av 16 osteomyelitstammar bildade α -hemolysin, proportionen var densamma beträffande kontrollstammar.

26–51 osteomyelitstammar testades på känslighet för olika antibiotika och sulfa. Nio stammar var resistenta mot 3 eller flera preparat. Tio stammar var helt känsliga för 6 eller flera preparat. Stafylokokker med sänkt känslighet mot meticillin påträffades inte. Jämfört med stafylokokker isolerade vid septikemi och sårinfektion avvek inte osteomyelitstammarna signifikant i resistens mot de testade antibiotika.

2. Serologiska undersökningar vid kronisk stafylokokkeosteomyelit (I, III, IV).

I aktivt stadium av kronisk osteomyelit bestämdes antistafylolysintiter (ASta) och i 20 fall titrerades antikroppar mot stafylokokkfager med indirekt hemmagglutination (IHA) enl. Kamme (1972).

ASta var positiv (från 3,7 till > 20 IU/ml) i endast 7 fall av 23 (30 %) under exacerbation (I). En förhöjd ASta-titer (> 2,5 IU/ml) påträffades oftast hos patienter infekterade med stafylokokker tillhörande faggrupp I (IV), sannolikt beroende på att denna typ av stafylokokker var i hög grad bunden till recidiv av osteomyeliten med större möjlighet till stimulering till antistafylolysinbildning.

Fem av 12 patienter med recidiv efter långtidsbehandling hade förhöjda ASta-titrar vid tidigare exacerbation och av 29 patienter utan recidiv hade endast 7 reagerat med titerstegring.

Antikroppar mot stafylokokkfager tillhörande serologiska grupperna A, B och F följdes och jämfördes med ASta. Av 20 patienter visade 13 en titerstegring i IHA under aktiv infektion och/eller titerfall vid infektionens läkning. I 11 fall fann man en minst 4-faldig titerstegring mot ett eller flera antigen under exacerbationens första skede. Hos alla 13 patienterna var titerfallet minst 4-faldigt under behandlingens gång och titerfallet var i regel långsamt. På 2 patienter utfördes sekvestrectomi och efter denna iaktogs snabba titerfall.

Tre patienter hade höga titrar (> 1/2560) mot ett eller flera antigen före, under och efter exacerbation utan att titerkurvan följde den kliniska bilden. Fyra av de 13 patienterna med signifikanta titerstegringar och -fall i IHA hade samtidigt signifikanta titerändringar i ASta. En patient hade hela tiden förhöjd ASta-titer utan signifikanta förändringar. De övriga 8 hade ASta-värden under < 2,5 UI/ml utan förändringar under exacerbation och läkning. Hos 4 patienter kunde ingen titer mot fagantigen påvisas i aktivt skede. En av dem hade en signifikant ökad ASta-titer 3 veckor efter tecken på regress.

3. Långtidsbehandling med antibiotika vid kronisk stafylokokkeosteomyelit (I, IV)

34 patienter, 25 män och 9 kvinnor, med säkerställd stafylokokketiologi till osteomyeliten i 31 fall, ingick i en första studie (I) med syfte att utpröva intensivbehandling av tidigare svårbehandlad kronisk osteomyelit med ett då

nyttillkommet isoxazolylderivat, cloxacillin. Preparatet användes huvudsakligen i fall då de isolerade stafylokockerna visade nedsatt penicillinkänslighet samt vid negativ odling eller när material till odling inte kunde erhållas. I de senare fallen utom 3 hade *Staphylococcus aureus* isolerats vid tidigare exacerbationer. Tre patienter erhöll andra antibiotika, penicillin V eller lincomycin.

Indikationer på aktiv osteomyelit, som föranledde antibiotikabehandling grundades på den kliniska bilden med lokalstatus, feber, smärta, förhöjd sänkingsreaktion och positiv reaktion på akut faspotein.

Dosen cloxacillin var initialt 0,5–1 g per os var 4:e timme med tillägg av probenecid 1 g x 2. Serumkoncentrationer av cloxacillin följdes hos 10 patienter och låg generellt över 12 µg/ml med ett medelvärde på 43 µg/ml 1 timme efter antibiotikaintag (I). Efter primär läkning inträffade ett flertal recidiv av infektionen inom några månader efter avslutad behandling och behandlingstiden förlängdes därför successivt. Vid analys av behandlingstid kontra resultat framkom att 7 av 9 behandlingsperioder kortare än 6 månader ledde till recidiv relativt snart efter behandlingens slut, medan 14 av 16 patienter behandlade 6 månader eller längre undgick tidiga recidiv.

Den allmänna antibiotikabehandlingen kompletterades med lokal antibiotikabehandling och kirurgi.

21 fall av stafylokockosteomyelit med öppna fistlar behandlades lokalt med cloxacillin i dextranemulsion, vilken förlångsammare nedbrytning av penicilliner (Thulin, Malm 1947). Blandningen innehöll 5 % antibiotikum och injicerades via röntgenkon eller införd kateter i fisteln 2 ggr per dag. Hela fistelsystemet fylldes. Behandlingen höll på tills fisteln slöt sig. Kvarvarande osteosyntesmaterial försvårade läkningen. Efter kombinerad lokal och allmän behandling samt borttagande av osteosyntesmaterial och sekvestrar i förekommande fall läkte fistlarna på 1–5 veckor (genomsnitt 3 veckor) hos 18 av 21 patienter. Vid bakteriologiska kontroller befanns nya, huvudsakligen gramnegativa bakterier ha invaderat fistlarna i ett fåtal fall, vilket föranledde byte av antibiotikum i dextranemulsionen. Den allmänna behandlingen behölls dock oförändrad. Någon kontrollgrupp förekom inte vid lokalbehandlingen på grund av svårigheter att finna jämförbara patientmaterial. Variationerna i lokalisering av infektion och utbredning av fistelsystem är stora vid kronisk osteomyelit.

Trots intensiv antibiotikabehandling av patienter med kvarvarande osteosyntesmaterial sviktade terapin. Avlägsnande av det främmande materialet visade sig ha avgörande betydelse för läkningen i en grupp på 7 patienter. Med fortsatt oförändrad antibiotikabehandling läkte infektionen i 6 fall under loppet av 3–10 veckor (I).

Ett utökat material och fortsatta observationer mer än 1 år efter avslutad antibiotikabehandling har legat till grund för en värdering av långtidsbehand-

lingens inverkan på recidivfrekvensen (IV). 41 patienter ingick i undersökningen och behandlades med antibiotika minst 6 månader. Lokal antibiotikabehandling och kirurgi förekom i en del av fallen. 33 patienter hade kronisk osteomyelit av intermittent typ, dvs med omväxlande exacerbation och regress. Recidivfrekvensen är lätt att mäta i sådana fall. Vid kronisk osteomyelit uppträder exacerbationer oregelbundet och slumpmässigt (Dolman 1935) som i en Poissonprocess. Recidivfrekvensen före och efter långtidsbehandling jämfördes med hjälp av en statistisk metod efter en modell analyserad av Tanner (1958). Under en observationstid på 1–5,5 år (medeltal med spridning $2,7 \pm 1,3$) minskade den samlade recidivfrekvensen i materialet signifikant ($P < 0,0005$) efter långtidsbehandling jämfört med perioden från debuten av sjukdomen fram till långtidsbehandlings början. Dock inträffade 21 nya exacerbationer efter långtidsbehandling hos 12 patienter i hela materialet. Tio patienter med intermittent osteomyelit svarade för 18 av recidiven. Nya exacerbationer uppträdde ungefär lika ofta i lokalbehandlade fall (4 av 16) som i icke-lokalbehandlade fall (6 av 17).

Kirurgiska ingrepp utfördes under pågående långtidsbehandling på 12 patienter, medan behov av kirurgi fanns hos 21 patienter vid exacerbation före långtidsbehandling. Radikal kirurgi förekom endast undantagsvis trots de tätt recidiverande och svårbehandlade infektionerna. I anslutning till antibiotikabehandling begränsade sig de operativa åtgärderna till extraktion av osteosyntesmaterial, dränage av abscesser och borttagande av sekvestrar.

4. Analys av recidiv efter långtidsbehandling (IV).

Efter långtidsbehandling inträffade recidiv hos 29 % av patienterna. Patienter med recidiv skilde sig inte signifikant i kön, ålder eller patogenes från de som förblev läkta. Framför allt kronisk osteomyelit med kort duration (< 6 år) tenderade att recidivera. Behandlingstiden med antibiotika och observationstiden var likvärdiga i grupperna med recidiverande resp. läkt osteomyelit.

Vid analys av fallen med recidiv framkom att 3 patienter hade tidigare okända sekvestrar.

Immunoglobuliner undersöktes i 5 fall med recidiv efter långtidsbehandling. IgG och IgA befanns vara förhöjda medan IgM var normala. Ingen patient med kronisk osteomyelit, som undersökts avseende immunoglobuliner, har haft subnormala värden.

Av 21 registrerade recidiv efter långtidsbehandling inträffade 16 hos 8 patienter, från vilka stafylokokker tillhörande faggrupp I hade isolerats från infektionsfokus vid exacerbation. De mest antibiotikaresistenta stammarna fanns bland de stafylokokker, som hade isolerats från recidivfall, och 5 av 6 multiresistenta stammar tillhörde faggrupp I. Nedsatt känslighet hos stafylokokker mot använda antibiotika kunde inte påvisas i recidivfallen efter genomförd långtidsbehandling.

Diskussion

Antibiotikabehandling vid kronisk stafylokockosteomyelit har under senare år inriktats mot en intensivare och långvarigare behandling än som tidigare var fallet (Arens o.a. 1966, Bell 1968, Paus 1969). Dessa författare föreslog 6 månaders behandling med antibiotika, men angav inga mättningsresultat som stöd för uppfattningen. I föreliggande arbete har ett försök gjorts att mäta effekten av minst 6 månaders behandling med antibiotika i hög dos.

Antalet recidiv är en lämplig parameter på framgång med behandling vid kronisk osteomyelit (Hierholzer o.a. 1967). Ett patientmaterial av kronisk osteomyelit har en heterogen sammansättning med hänsyn till patienternas ålder, sjukdomens duration, patogenes, patologi och processens lokalisation och utbredning. Även bakteriologiska skillnader finns i de patogenetiskt olika grupperna hematogen och posttraumatisk osteomyelit (II). Det mest ideala i detta material var att låta patienterna utgöra sin egen kontroll. Recidivintensiteten beräknades före och efter långtidsbehandling under en observationstid upp till 5,5 år (IV). Statistisk analys av den samlade nedgången i recidivfrekvens bekräftade det första resultatet efter en kort observationstid (I) att minst 6 månaders antibiotikabehandling reducerar recidivrisk.

I materialet var de operativa ingreppen färre efter långtidsbehandling än innan, vilket överensstämmer med andra observationer. Sålunda fann Rowling (1970) att behovet av kirurgi har minskat efter tillkomsten av mera verksamma antibiotika mot stafylokocker jämfört med tidigare epoker (Rowling 1959). Nackdelar med operation ansåg Rowling (1970) vara att den var tidsödande och excision av benvävnad gav ökad risk för frakturer.

Flera författare har framhållit svårigheten i att läka ett akut skov av kronisk osteomyelit utan kirurgi beroende på ischemi och scleros i skelettet (Clawson o.a. 1965, Richter 1968, Eickhoff 1972). Arteriografi av extremiteter vid kronisk osteomyelit har avslöjat kärlförträngningar i det angripna området (Maurer, Scheibe 1965). I 2 av 14 fall var den arteriella blodförsörjningen normal. Vid undersökningar av antibiotikainnehåll i benmärg och skelettvävnad har man dock visat att ett flertal antibiotika kan nå fram till osteomyelitiskt förändrad vävnad hos människa och experimentdjur (Hierholzer o.a. 1966, Norden 1971). I mer än hälften av fallen i vårt material var intensiv behandling med enbart antibiotika framgångsrik. I resten av materialet var operativa åtgärder oundvikliga, såsom extraktion av osteosyntesmaterial, sequesterectomi och dränage av abscesser, vid terapisivikt med antibiotika. Däremot har utskrapning av osteomyelithården och excision av fistlar i stort sett kunnat undvikas i vårt material. Fistlarna läkte på kort tid med hjälp av lokal-

behandling. Mera radikal kirurgi torde kunna begränsas till fall där antibakteriell långtidsbehandling inte har lett till framgång på lång sikt. Lokalbehandlingen med antibiotika i dextranemulsion har kunnat bedrivas utan samtidig kirurgisk behandling genom att injektion av dextranvehikeln har skett i fistlar. Lokalbehandlingen minskade inte recidivfrekvensen, men primärläkning skedde snabbt och underlättade situationen för patienten samtidigt som smittrisken för omgivningen reducerades. Metoden har kunnat användas också i öppen vård och sålunda varit mindre vårdkrävande och belastande än tidigare metoder för lokalbehandling med sluten spolning och sugning (Mitra o.a. 1957, Dombrowski o.a. 1965, Compere o.a. 1967, Kelly o.a. 1970). Mitra o.a. (1957) rapporterade effekt i ca 2/3 av fallen och risken för superinfektion har befarats med kvarliggande katetrar (Lawyer 1972).

För bedömning av infektionens aktivitet och utläkning under behandling kommer den kliniska undersökningen i första hand. Sänkningsreaktion (SR) och akut fasprotein (CRP) är ospecifika diagnostiska hjälpmedel, som är snabba och lätta att utföra. Särskilt i fall med öppetstående fistlar kan SR vara normal eller låg (Amann o.a. 1971). Bestämning av AStA som diagnostisk metod vid kronisk osteomyelit orsakad av stafylokocker har ofta visat sig otillräcklig (Blair, Hallman 1935, Buchmann 1937, Lack 1957, Lack, Towers 1962) och erfarenheten är densamma i vårt material (I, III). Vid stafylokockosteomyelit kunde antikroppar mot stafylokockfager påvisas i 65 % med titerstegring under exacerbation och titerfall vid regress (III). Metoden var klart överlägsen AStA-reaktionen, som visade korrelation med kliniskt förlopp endast i 5 fall. Scintimetri med ⁸⁵Sr-metoden har varit av värdeför fastställande av aktivitet vid kronisk osteomyelit (Bauer, Wendeberg 1959; Dymling, Wendeberg 1965), men har inte varit tillgänglig för undersökning av det här redovisade patientmaterialet. Röntgenologiska tecken kommer många gånger sent i förloppet vid exacerbation och kan vara svåra att bedöma på grund av tidigare utbredda förändringar (Teplick o.a. 1968). Röntgenundersökning vid kronisk osteomyelit, ev. med tomografi, är framför allt värdefull för upptäckt av sekvestrar. Den kliniska undersökningen kompletterad med SR, CRP, bestämning av antikroppar mot stafylokockfager och scintimetri utgör en lämplig grundval för bedömning av aktivitet vid kronisk stafylokockosteomyelit.

I några fall låg titrarna mot vissa grupper stafylokockfagantigen kvar på höga nivåer, vilket möjligen kan bero på att antigen stimulus fanns kvar i härden. Det faktum, att 11 av 15 isolerade stafylokockstammar vid exacerbation hade samma eller liknande fagtyp som tidigare isolerade stafylokocker hos patienten (IV), talar för att bakterierna inträder i ett inaktivt stadium snarare än att patienterna reinfekteras med nya typer av stafylokocker. *Staphylococcus aureus* har i ett fåtal undersökningar isolerats som L-form vid fall av kro-

nisk osteomyelit (Rosner 1968, Gordon o.a. 1971) och förmågan att övergå till vägglösa celler har ansetts gynna stafylokockernas möjligheter att överleva i vävnaden. En liknande teori framlade redan Garré (1893).

Med utsträckt antibiotikabehandling i hög dos kunde recidivrisken nedbringas, men ett stort antal patienter (29 %) drabbades av en eller flera exacerbationer efteråt. I ett fåtal fall förekom sekvestrar i samband med recidiven. Uppfattningen, att sekvestrar med infektiöst material omkring kan vidmakthålla en subklinisk kronisk infektion (Lennert 1965, Dombrowski, Dunn, 1965), stödes av det snabba fallet i titrar mot bakteriofager efter sekvesterectomi hos 2 patienter (III). Lack o.a. (1962) observerade likaså att AStA och antikoagulantitrar sjönk efter sekvesterectomi.

Osteomyelitstammarnas resistens mot antibiotika var inte ökad jämfört med stammar isolerade från sepsis och sårinfektion (II). Resistens mot sulfa, penicillin och streptomycin förekom huvudsakligen bland de stammar, som hade isolerats från recidivfall (IV). Ett selektionstryck under upprepad behandling med olika antibiotika före långtidsbehandling kan ha favoriserat resistentastammar. West o.a. (1970) erfor också högre grad av terapisivikt vid kronisk osteomyelit orsakad av penicillin G-resistentastammar.

16 av 21 registrerade recidiv efter intensiv antibiotikabehandling inträffade hos 8 patienter, som alla var infekterade med stafylokocker tillhörande faggrupp I. Stafylokocker från kronisk osteomyelit av hematogent ursprung tillhörde huvudsakligen faggrupp I. Samma iakttagelse gjorde Jessen o.a. (1969) beträffande stafylokocker isolerade från blod vid akut osteomyelit. Häri skiljer sig stafylokocker isolerade vid septikemifall utan samtidig osteomyelit, där fördelningen i faggrupper var densamma som för stafylokocker i allmänhet (II). Under senare år har en förskjutning av frekvensen isolerade stafylokocker i olika faggrupper inträffat. Antalet stammar i faggrupp III och nya tidigare icke kända fagtyper har ökat, medan frekvensen av faggrupp I har minskat (Jessen o.a. 1969). Hematogena kroniska osteomyelitfall har genomsnittligt längre sjukhistoria än posttraumatiska och till en del kan överrepresentationen av faggrupp I bland de hematogena osteomyeliterna förklaras med att sjukdomen debuterade under en period då infektion med faggrupp I-stafylokocker var vanligare än nu. Rapporter från början och mitten av 1950-talet tyder på att då förekommande sjukhusinfektioner till största delen orsakades av stafylokocker i faggrupp I (Hnatko 1967). Emellertid debuterar hematogen osteomyelit vanligen utan föregående sjukhuskontakt. Epidemiologen har ändrat karaktär under senare år med dominans av faggrupp III-stafylokocker vid sårinfektioner, som föregår de posttraumatiska osteomyeliterna. Avsaknaden av stammar från faggrupp III bland de hematogena osteomyeliterna kan emellertid inte förklaras på epidemiologiska grunder.

Staphylococcus aureus har en förbryllande förmåga att kroniskt kolonisera

näsöppningar; hud och skelett (Blair 1962) och har kallats en framgångsrik parasit (Mudd 1970). Förhållandet, att faggrupp I-stammar dominerade vid kronisk osteomyelit av hematogent ursprung och bland recidiv efter långtidsbehandling, tyder på, att dessa stammar har haft större möjligheter än faggrupp III-stammar att överleva i skelett och benmärg (II, IV).

Vid patologisk-anatomisk undersökning av osteomyelithärdar fann Lennert (1965) makrofager, som hade fagocyterat rikligt med lipiddroppar. Förekomst av lipidhaltigt material i infektionshärden kan vara av betydelse för stafylokockernas metabolism. Genom lipolys producerar stafylokockerna fria fettsyror. Resultat från ännu inte avslutade undersökningar¹ av lipolytisk aktivitet hos *Staphylococcus aureus*, isolerade från fall av kronisk osteomyelit och andra infektioner (sepsis, sårinfektioner, diarré) och näsbärare, har visat olika lipolytisk aktivitet hos stammarna gentemot triglycerider. Innehållet av frigjorda fettsyror i buljong med 1 % olivolja i emulsion undersöktes med titrimetrisk metod (Stewart 1965) efter inokulation av *Staphylococcus aureus* och 18 timmars inkubation vid 37°C. Åtta av 17 stafylokockstammar från kronisk osteomyelit gav ingen eller obetydlig ackumulation av fettsyror i buljongen. Sju av dessa 8 stammar var isolerade från fall med recidiv efter långtidsbehandling med antibiotika. Endast 7 av 40 stafylokockstammar från andra infektioner orsakade inte ackumulation av fettsyror i lipidmediet. Dessa 40 stammar utgjorde 4 grupper med 10 stammar i varje: faggrupp I och III, med positiv och negativ Tween 80-reaktion. Tween-positiva stafylokocker i faggrupp III gav upphov till signifikant högre genomsnittlig ackumulation av fettsyror i lipidmediet än övriga grupper. Två par stammar, som orsakade hög resp. ingen ackumulation av fettsyror i lipidmedium, undersöktes med hänsyn till graden av extracellulär lipolytisk aktivitet gentemot tritiummärkt trioleoylglycerol enligt NilssonEhle o.a. (1972) samt inkorporering av ¹⁴C-oleinsyra under tillväxt vid 37°C enligt Wiebe och Befrage (1974). Resultaten visade att de stammar, som orsakade hög ackumulation av fettsyror i lipidbuljong, hade högre lipolytisk aktivitet än de stammar, som inte gav upphov till ackumulation. De sistnämnda stammarnas lipolys av trioleoylglycerol var så låg i förhållande till hastigheten av inkorporeringen av ¹⁴C-oleinsyra, att bakterierna under tillväxt i lipidbuljong troligen har förmåga att inkorporera alla de fettsyror, som frigöres genom lipolys. Mängden inkorporerad oleinsyra var ungefär lika per 10¹⁰ bakterier för de 4 undersökta stammarna. Ytterligare detaljstudier pågår för analys av balansen mellan fettsyraproduktion och inkorporering av fettsyror under stafylokockernas tillväxt i lipidmedium. Många fettsyror, ex. oljesyra, har en hämmande inverkan på grampositiva bakteriers

¹ S.Å. Hedström: Opublicerade data.

tillväxt (Kodicek, Worden 1944, Dubos 1947) och nedsätter respirationen (Wynne, Foster 1950). En hög lipolytisk aktivitet, som faggrupp III-stafylokocker uppvisade, kan därför vara ogynnsam för bakterierna i en miljö med lipidhaltigt material. Flertalet stafylokocker, som isolerades från fall med recidiv efter långtidsbehandling med antibiotika, gav inte upphov till ackumulation av fettsyror i lipidbuljong. Osteomyelit orsakad av denna typ av stafylokocker var således prognostiskt sämre och en undersökning av stafylokockernas lipolytiska aktivitet kan vara vägledande för prognos och behandling.

Konklusioner

Avhandlingen grundas på tidigare publicerade artiklar angivna på sidan 3 och i diskussionen berörs preliminära resultat från egna, ännu inte publicerade undersökningar. Den inbegriper kronisk stafylokockosteomyelit från klinisk-bakteriologisk synvinkel och omfattar etiologi, serologiska undersökningar och antibakteriell behandling med dess prognos.

De stafylokockstammar, som isolerades från fall av kronisk osteomyelit hade följande egenskaper: Av 50 fagtypade stammar tillhörde 24 faggrupp I, 8 faggrupp II och 15 faggrupp III. Tre stammar var inte typbara. 13/15 stammar från fall av hematogen kronisk osteomyelit tillhörde faggrupperna I och II. Faggrupp III var inte representerad. Fördelningen skiljer sig signifikant från fördelningen av stammar från posttraumatisk kronisk osteomyelit och septikemi. 90 % av alla osteomyelitstammar visade lipolytisk aktivitet med det vattenlösliga Tween 80 som substrat. Undersökning av stafylokockers lipasaktivitet gentemot vattenolösligt substrat (olivolja) visade att 8/17 osteomyelitstammar inte gav upphov till ackumulation av fettsyror i lipidmediet. Av stafylokocker isolerade från andra infektioner producerade Tween 80-positiva stammar i faggrupp III signifikant större mängd fettsyror i lipidmedium än stammar i faggrupp I. Ingen skillnad från stafylokockstammar i allmänhet förelåg beträffande protein A-syntes eller α -hemolysinproduktion hos 16 osteomyelitstammar. 26—51 osteomyelitstammar uppvisade samma grad av känslighet för ett flertal antibiotika som stafylokockstammar från andra infektioner.

En ny serologisk metod, bestämning av antikroppar mot stafylokockfager genom indirekt hemagglutination (IHA), prövades på 20 fall av kronisk osteomyelit. I 13 fall fanns en korrelation mellan IHA-titer och det kliniska förloppet. En signifikant titerstegring och/eller — fall iaktogs under exacerbation resp. regress. AS_ta-reaktionen visade samma korrelation endast i 5 fall. Tre

patienter hade ständigt höga titrar oberoende av det kliniska förloppet. Hos 4 patienter kunde inga titrar i IHA påvisas. En av patienterna hade en förhöjd ASa-titer 3 veckor efter tecken på regress. Ett snabbt fall i IHA-titer iaktogs hos 2 patienter efter sekvesterektomi.

Långtidsbehandling (6 månader eller längre) med antibiotika i höga doser av 33 patienter med anamnes på upprepade recidiv av osteomyelit resulterade i betydligt lägre risk för återfall under en observationsperiod jämfört med perioden före långtidsbehandlingen. Den allmänna behandlingen kompletterades med kirurgiska åtgärder i 12 fall och lokal behandling i 21 fall. Denna utfördes genom att antibiotikum i dextranvehikel injicerades 2 gånger dagligen i fistlar. Fistlarna läkte på 1-5 veckor (i medeltal 3 veckor). Läkningen fördröjdes av abscesser, sekvestrar och osteosyntesmaterial, som avlägsnades. Läkningen fortgick häfter normalt.

Recidiv iaktogs hos 12 patienter efter långtidsbehandling. Åtta av dessa patienter var infekterade med stafylokocker tillhörande faggrupp I och flera av stammarna var mer resistent mot antibiotika än andra osteomyelitstammar. 7/8 osteomyelitstammar, som inte orsakade ackumulation av fettsyror i lipidmedium, var isolerade från patienter med recidiv efter långtidsbehandling. Hos patienter har inga faktorer påvisats, som predisponerar till recidiv.

De huvudsakliga konklusionerna av detta arbete är:

- a) Långtidsbehandling med antibiotika (6 månader eller längre) är berättigad vid stafylokockosteomyelit på grund av den reducerade risken för recidiv. Med kompletterande lokalbehandling med antibiotika i dextranvehikel kan fistlar förmås sluta sig på kort tid (1-5 veckor).
- b) Bestämning av antikroppar mot stafylokockfager med indirekt hemagglutination är en användbar metod och överlägsen bestämning av antistafylolysintiter för diagnostik av stafylokockosteomyelit och för värdering av infektionens aktivitet och behandlingens effekt.
- c) Stafylokocker tillhörande faggrupp I har större förmåga att överleva i härdar av kronisk osteomyelit än stammar tillhörande faggrupp III. Möjligen beror detta på kvantitativa skillnader i stafylokockernas lipasaktivitet med mindre risk för faggrupp I-stafylokocker att påverkas av fria fettsyror, som kan ackumuleras i härden vid hög lipolytisk aktivitet.

Summary

The dissertation is based on articles I-IV, listed on page 3. The dissertation concerns chronic staphylococcal osteomyelitis from a clinical-bacteriologic aspect, including etiology, serologic investigations, and antibiotic treatment with prognosis and in the discussion preliminary results from unpublished investigations by the author are touched upon.

The staphylococcal strains isolated from cases of chronic osteomyelitis had the following characteristics: Of 50 phage-typed strains, 24, 8, and 15 belonged to phage-groups I, II and III respectively. Three strains were non-typable. 13/15 strains from cases of hematogenous chronic osteomyelitis belonged to phage-groups I and II; phage-group III was not represented. The distribution differs significantly from posttraumatic chronic osteomyelitis strains and also from strains causing septicemia. Ninety per cent of all osteomyelitis strains showed lipolytic activity when tested against Tween 80. Investigations of the lipolytic action on water-insoluble substrate (olive-oil) showed that 8/17 osteomyelitis strains did not cause accumulation of fatty acids in the lipid medium. Among staphylococci isolated from other infections Tween 80-positive strains in phage-group III produced significantly greater amount of fatty acids in lipid medium than staphylococci in phage-group I. Sixteen osteomyelitis strains were tested for protein A content and α -hemolysin production and no difference was seen in comparison with staphylococci from other sources. Nor was any difference noted in sensitivity to various antibiotics of 26–51 strains from cases of osteomyelitis compared with staphylococci from other infections (wounds and septicemia).

A new serologic method, determination of antiphage antibodies by indirect hemagglutination (IHA), was tested in 20 cases of chronic osteomyelitis. In 13 cases a correlation was found between the IHA-titre and the clinical course. A significant rise in titre was found during exacerbation and a significant fall during regression. The AS_t-reaction showed the same correlation in only 5 cases. Three patients had constantly high titres irrespective of the clinical course. In 4 patients no titres could be demonstrated in IHA. One of the patients had a rise in AS_t 3 weeks after signs of regression. A rapid fall in IHA-titre was seen in 2 patients after sequesterectomy.

Long-term treatment (6 months or more) with antibiotics in high doses in 33 patients with anamnesis of repeated relapses of osteomyelitis resulted in a significantly reduced risk of recurrence during an observation-period as compared with the period before longterm treatment (LTT). The general antibiotic treatment was supplemented with surgical procedures in 12 cases and local treatment in 21. The local treatment was performed with an antibiotic in dex-

tranvehicle, which was injected twice a day into the fistulae. The fistulae healed in 1-5 weeks (on the average in 3 weeks). The healing of osteomyelitis was delayed by abscesses, sequestra and osteosynthesis material, which was removed. After that regression was observed.

After LTT, recurrences were seen in 12 patients. Eight of these patients were infected by staphylococci belonging to phage-group I. Several strains isolated at relapses were more resistant to antibiotics than other osteomyelitis strains. 7/8 osteomyelitis strains not causing accumulation of fatty acids in lipid-medium were isolated from patients with relapse of osteomyelitis after long-term antibiotic treatment. No host-factors, predisposing for relapse, have been assessed.

The main conclusions of this study are:

- a) Long-term antibiotic treatment (6 months or more) of chronic staphylococcal osteomyelitis is justified because of the reduced risk of relapse. A local treatment with antibiotics in dextranvehicle contributes to an early closure of the fistulae (1-5 weeks).
- b) Test for antibodies against staphylococcal phages is a useful method and superior to determination of ASta-titre for diagnosis of staphylococcal osteomyelitis and for evaluation of activity of the infection and effect of treatment.
- c) Staphylococci belonging to phage-group I are more adapted to survive in foci of chronic osteomyelitis than those belonging to phage-group III. It is possible that a lower lipolytic action on water-insoluble substrates of phage-group I-staphylococci compared with phage-group III-staphylococci reduces the risk of growth-inhibition by free fatty acids, which may accumulate in the focus at high lipolytic activity.

Referenser

- Amann, E.; Mostbeck, A.; Salem, G. (1971): Die Bedeutung der Knochenszintigraphie für die Frühdiagnose und Verlaufskontrolle entzündlicher Knochenerkrankungen. *Wien Klin Wschr* 83:941–945.
- Arens, W.; Thiele, H. (1966): Über die Behandlung chronisch eitriger Osteomyelitiden mit einem neuartigen Antibiotikum. *Fortschr Med* 84: 31–34.
- Axhausen, W. (1966): Die chronische Osteomyelitis in der antibiotischen Ära. *Med Welt* 230–234.
- Baer, W.S. (1931): The treatment of chronic osteomyelitis with the maggot (larva of the blow fly). *J Bone Joint Surg* 13: 438–475.
- Bauer, G.; Wendeberg, B. (1959): External counting of Ca^{47} and Sr^{85} in studies of localized skeletal lesions in man. *J Bone Joint Surg* 41 B:558–580.
- Bell, S.M. (1968): Oral penicillins in the treatment of chronic staphylococcal osteomyelitis. *Lancet* 2: 295–297.
- Blair, J.E. (1937): Rationale of toxoid therapy in staphylococcal infections with reference to serologic grouping of staphylococci. *Proc Sec Int Congr Microbiol, London*, s. 518–519.
- Blair, J.E. (1962): What is a staphylococcus? *Bact Rev* 26:375–381.
- Blair, J.E.; Hallman, F.A. (1935): Staphylococcal antihemolysin in osteomyelitis and other staphylococcal infections. *Proc Soc Exp Biol Med* 33:382–386.
- Blanke, K. (1952): Osteomyelitis-therapie seit Einführung der Antibiotika. *Ergeb Chir Orthop* 37:61–92.
- Buchman, J. (1937): The use of staphylococcus toxoid in the treatment of chronic osteomyelitis. *J Am Med Assoc* 108:1151–56.
- Calandruccio, R.A. (1971): Miscellaneous affections of bones. In: Campbells operative orthopaedics, 5th ed, A.H. Crenshaw (editor). C.V. Mosby Company, Saint Louis.
- Chadwick, J.; Mann, W.N. (1950): The medical works of Hippocrates. S. 64. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Chassaingnac, M. (1854): Mémoire sur l'ostéomyélite. *Gaz Méd Paris* ss. 505–507, 534–537, 548–550, 568–570.
- Clawson, D.K.; Stevenson, J.K. (1965): Treatment of chronic osteomyelitis. *Surg Gynecol Obstet* 120:59–69.
- Compere, E.L.; Metzger, W.I.; Mitra, R.N. (1967): The treatment of pyogenic bone and joint infections by closed irrigation (circulation) with a non-toxic detergent and one or more antibiotics. *J Bone Joint Surg* 49 A:614–624.
- Demme, H. (1862): Zur Kenntniss und Behandlung der Osteomyelitis spontanea diffusa. *Arch klin Chir* 3:169–271.
- Depenbusch, F.L.; Thompson, R.E.; Hart, G.B. (1972): Use of hyperbaric oxygen in the treatment of refractory osteomyelitis: a preliminary report. *J Trauma* 12:807–812.
- Derian, P.S.; Green, B.M. (1966): Postoperative wound infections. *Amer Surgeon* 32:388–390.
- Dolman, C.E. (1935): Clinical uses of staphylococcus toxoid. *Lancet* 1:306–313.
- Dombrowski, E.T.; Dunn, A.W. (1965): Treatment of osteomyelitis by débridement and closed wound irrigation-suction. *Clin Orthop* 43:215–231.
- Dubos, R.J. (1947): The effect of lipids and serum albumin on bacterial growth. *J Exp Med* 85:9–22.
- Dumas, J.; Carrel, A. (1917): Pratique de l'irrigation des plaies. Citerad i Kelly, P.J.; Martin, W.J.; Coventry, M.B. (1970).

- Dunkmann, G. (1939): Die Osteomyelitis und ihre Prognose. *Ergeb Chir Orthop* 32:527–565.
- Dymling, J.F.; Wendeberg, B. (1965): External counting of ^{85}Sr and ^{47}Ca in localized bone infections. *Acta Orthop Scand* 36:8–20.
- Edwards, P. (1965): Fracture of the shaft of the tibia: 492 consecutive cases in adults — importance of soft tissue injury. *Acta Orthop Scand* 36, Suppl 76.
- Eickhoff, T.C. (1972): Therapy of staphylococcal infection. In: *The staphylococci*. Ed. Cohen, J.O., Wiley-Interscience, New York.
- Ekstedt, R.D. (1972): Immunity to the staphylococci. In: *The staphylococci*. Ed.: Cohen, J.O., Wiley-Interscience, New York.
- Elek, S.D. (1959): *Staphylococcus pyogenes* and its relation to disease. S. 345. E. & S. Livingstone, Edinburgh and London.
- Finsterbusch, A.; Weinberg, H. (1972): Venous perfusion of the limb with antibiotics for osteomyelitis and other chronic infections. *J Bone Joint Surg* 54 A:1227–1234.
- Forssman, J. (1936 a): Studies in staphylococci. VI. On the course of *Staphylococcus* infection in normal and immunised rabbits. *Acta Path Microbiol Scand* 13:453–458.
- Forssman, J. (1936 b): Studies in staphylococci. VII. On active immunity against staphylococcal infections and its relation to known antibodies against staphylococci or products of these bacteria. *Acta Path Microbiol Scand* 13:459–485.
- Forssman, J. (1937): Studies in staphylococci. IX. On the mechanism in staphylococcal infection and immunity. *Acta Path Microbiol Scand* 14: 468–477.
- Forssman, J. (1938): Studies in staphylococci. XII. A contribution to the knowledge of late paralyses in rabbits following *Staphylococcus* infections. *Acta Pathol Microbiol Scand* 155–162, Suppl 37.
- Frost, H.M.; Villaneuva, A.R.; Roth, H. (1960): Pyogenic osteomyelitis. Diffusion in live and dead bone with particular reference to the tetracycline antibiotics. *Henry Ford Hosp Med Bull* 8:255–262.
- Garré, C. (1885): Zur Aetiologie akute eitriger Entzündungen (Osteomyelitis, Furunkel und Panaritium). *Fortschr Med* 3:165–173.
- Garré, C. (1893): Über besondere Formen und Folgezustände der akuten infektiösen Osteomyelitis. *Bruns Beitr klin Chir* 10:241–298.
- Gordon, S.L.; Greer, R.B.; Craig, C.P. (1971): Recurrent osteomyelitis. Report of four cases culturing L-form variants of staphylococci. *J Bone Joint Surg* 53 A:1150–56.
- Grace, E.J.; Bryson, V. (1950): Modern treatment of chronic osteomyelitis with topical detergent antibiotic therapy. *Surg Gynecol Obstet* 91:333–342.
- Grundmann, G. (1953): Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der Osteomyelitis. *Langenbecks Arch klin Chir* 277:117–142.
- Hansen, H.-J. (1969): Diskuserkrankungen. In: *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere*, 3:e uppl. Band I. Ed.: Joest, E., Berlin.
- Heugen, O.P. (1970): Disease some hundred million years ago. *Image* 35:6–12.
- Hierholzer, G.; Knothe, H.; Rehn, J.; Koch, F. (1966): Fusidinsäurekonzentrationen in chronisch entzündetem Gewebe. *Arzneim Forsch* 16:1549–1552.
- Hierholzer, G.; Rehn, J.; Koch, F.; Gatos, M. (1967): Untersuchungen zur chronischen post-traumatischen Osteomyelitis. *Beitr klin Chir* 215:376–383.
- Hnatko, S.I. (1967): The treatment of acute and chronic staphylococcal osteomyelitis and soft tissue infections with lincomycin. *Can Med Assoc J* 97:580–584.
- Hobo, T. (1921–1922): Zur Pathogenese der akuten hematogenen Osteomyelitis, mit Berücksichtigung der Vitalfärbungslehre. Citerad av Waldvogel, F.A.; Medoff, G.; Swartz, M.N. (1970).

- Holland, C. (1972): Experimentelle Untersuchungen zur Ultraschallosteomyelitis. *Z Orthop* 110:145–159.
- Holloway, W.J.; Scott, E.G. (1965): Clinical experience with lincomycin. *Am J Med Sci (Philadelphia)* 249: 691–695.
- Holstein, P.E.; Hvid-Hansen, O. (1972): Dikloksacillin (Dicloclil®) ved uspecifik ostitis og osteomyelitis. *Ugeskr Laeger* 134:1655–1661.
- Hurley, J.D.; Wilson, S.D.; Worman, L.W.; Carey, L.C. (1966): Chronic osteomyelitis. Treatment by regional perfusion with antibiotics. *Arch Surg* 92:548–553.
- Jeffery, C.C.; Sevvitt, S.; Topley, E. (1949): Acute osteomyelitis due to a penicillinase-producing *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 1:259–261.
- Jessen, O.; Rosendal, K.; Bülow, P.; Faber, V.; Eriksen, K.R. (1969): Changing staphylococci and staphylococcal infections. *N Engl J Med* 281:627–635.
- Jones, R.F.; Barnett, J.A.; Gregory, C.F. (1973): Regional perfusion with antibiotics for chronic bone infections. *Arch Surg* 106:142–144.
- Kamme, C. (1972): Serological grouping of staphylococcal phages by indirect haemagglutination. *Acta Path Microbiol Scand B* 80:923–930.
- Kelly, P.J.; Martin, W.J.; Coventry, M.B. (1970): Chronic osteomyelitis. II. Treatment with closed irrigation and suction. *J Am Med Assoc* 213:1843–1848.
- Klemm, K. (1967): Die kombinierte operativ-antibiotische Behandlung der chronischen Osteomyelitis mit Fucidine. *Hefte Unfallheilk* 91:314–317.
- Knight, M.P.; Wood, G.O. (1945): Surgical obliteration of bone cavities following traumatic osteomyelitis. *J Bone Joint Surg* 27:547–556.
- Kocher, T. (1878): Die acute Osteomyelitis. *Dtsch Z Chir* 11:87–90.
- Kodicek, E.; Worden, A.N. (1944): Effect of unsaturated fatty acids upon the growth of *Lactobacillus helveticus* and other gram-positive bacteria. *Nature* 154:17–18.
- Kraske, P. (1887): Zur Aetiologie und Pathogenese der akuten Osteomyelitis. *Arch klin Chir* 34:701–737.
- Kuner, E.H.; Houschyar, K.; Weyand, F. (1971): Das Osteomyelitisproblem im Wandel der Prophylaxe und Therapie. *Bruns Beitr klin Chir* 219:46–55.
- Lack, C.H. (1957): Staphylococcal antibody in osteomyelitis and suppurative arthritis. *Proc roy Soc Med* 50:625–628.
- Lack, C.H.; Shelswell, J.H. (1955): A serological test in the diagnosis of staphylococcal infection. *J Bone Joint Surg* 37 B:135–138.
- Lack, C.H.; Towers, A.G. (1962): Serological tests for staphylococcal infection. *Brit Med J* 2:1227–1231.
- Lawyer, R.B.; Eyring, E.J. (1972): Intermittent closed suction-irrigation treatment of osteomyelitis. *Clin Orthop* 88:80–85.
- Lennert, K. (1965): Pathologische Anatomie der Osteomyelitis. *Z Orthop* 100 (Suppl):27–64.
- Lettow, F. (1950): Weitere Erfahrungen bei der Penicillinbehandlung chronischer, besonders orthopädischer Krankheiten. *Z Orthop* 79:673–682.
- Lexer, E. (1894): Zur experimentellen Erzeugung osteomyelitischer Herde. *Arch klin Chir* 48:181–200.
- Lexer, E. (1896): Experimente über Osteomyelitis. *Arch klin Chir* 53:266–277.
- Lichtenstein, L. (1970): Infections in bone. In: *Diseases of bone and joints*. C.V. Mosby Company, Saint Louis.
- Lidgren, L.; Lindberg, L. (1972): Orthopaedic infections during a 5-year period. *Acta Orthop Scand* 43:325–334.
- Lücke. (1874): Die primäre infektiöse Knochenmark- und Konchenhautentzündung. *Dtsch Z Chir* 4:218–245.

- Mankin, H.J.; Proppe, K.H. (1973): Osteolytic lesions in a patient with pemphigus and hypercortisonism. *New Engl J Med* 288:1067–1071.
- Mappes, G.; Volk, H. (1963): Allgemeine und örtliche antibiotische Langzeitbehandlung der posttraumatischen Osteomyelitis. *Chirurg* 34:400–407.
- Maurer, H.-J.; Scheibe, G. (1965): Arteriographische Untersuchungen bei chronischer Osteomyelitis. *Fortschr Röntgenstr* 103:697–703.
- Mitra, R.N.; Grace, E.J. (1956–1957): Further studies on the treatment of chronic osteomyelitis with topical detergent antibiotic therapy. S. 455–466. *Antibiot Annual 1956–1957*. Medical Encyclopedia, New York.
- Mudd, S.; Gladstone, G.P.; Lenhart, N.A. (1965): The antigenicity in man of staphylococcal leucocidin toxoid with notes on therapeutic immunization in chronic osteomyelitis. *Brit J Exp Path* 46:455–472.
- Mudd, S. (1970): A successful parasite: Parasite-host interaction in infection by *Staphylococcus aureus*. In: *Infectious agents and host reactions*. Ed.: Mudd, S. Saunders, Philadelphia.
- Nickerson, D.S.; Kazmierowski, J.A.; Kronvall, G.; William Jr, R.C.; Quie, P.G. (1970): Immune response to chronic osteomyelitis in the rabbit. *Proc. Soc Exp Biol Med* 134:821–824.
- Nilsson-Ehle, P.; Tornqvist, H.; Belfrage, P. (1972). Rapid determination of lipoprotein lipase activity in human adipose tissue. *Clin Chim Acta* 42:383–390.
- Norden, C.W. (1971): Experimental osteomyelitis. II. Therapeutic trials and measurement of antibiotic levels in bone. *J Infect Dis* 124:565–571.
- Obel, A.-L. (1969): Nekrose und Entzündung des Skeletts. In: *Die Osteomyelitis. Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere*. 3:e uppl. Band I. Ed.: Joest, E. Berlin.
- Organ, C.H. (1971): The utilization of massive doses of antimicrobial agents with isolation perfusion in the treatment of chronic osteomyelitis. *Clin Orthop* 76:185–193.
- Parish, H.J.; O'Meara, R.A.Q.; Clark, W.H.M. (1934): The clinical investigation of staphylococcal toxin, toxoid, and antitoxin. *Lancet* 1:1054–1057.
- Paus, B. (1969): Behandlung av osteomyelitt. *T norske Laegeforen* 89:323–326.
- Perrins, D.J.D.; Maudsley, R.H.; Colwill, M.R.; Slack, W.K.; Thomas, D.A. (1965): OHP in the management of chronic osteomyelitis. In: *Proc 3rd int conf hyperbaric medicine*, 1965, Durham N.C. Ed.: Brown, I.W.; Cox, B.G. Washington.
- Pillich, J.; Vymola, F.; Buda, J. (1970): Bedeutung der Lysogenitätsuntersuchungen an den bei akuten und chronischen Prozessen isolierten Staphylokokken. *Z Ges Inn Med* 25:72–76.
- Reploh, H. (1965): Die Osteomyelitis aus der Sicht des Bakteriologen. *Z Orthop* 100 (Suppl): 65–76.
- Richter, E. (1968): Die chronische hämatogene und exogene Osteomyelitis. Teil II. *Bruns Beitr klin Chir* 216:713–729.
- Rosenbach, J. (1878): Beiträge zur Kenntniss der Osteomyelitis. *Dtsch Z Chir* 10:369–393.
- Rosner, R. (1968): Isolation of protoplasts of *Staphylococcus aureus* from a case of recurrent acute osteomyelitis. *Am J Clin Path* 50:385–390.
- Rowling, D.E. (1959): The positive approach to chronic osteomyelitis. *J Bone Joint Surg* 41 B:681–688.
- Rowling, D.E. (1970): Further experience in the management of chronic osteomyelitis. *J Bone Joint Surg* 52 B:302–307.
- Ryan, R.F.; Winblad, J.N.; Hayes, R.R.; York, W.M.; Hottinger, G.; Reemtsma, K. (1959): A new treatment for osteomyelitis. Extremity perfusion with antibiotics. *J Louis State Med Soc* 111:113–115.
- Smith-Petersen, M.N.; Larson, C.B.; Cochran, W. (1945): Local chemotherapy with primary closure of septic wounds by means of drainage and irrigation cannulae. *J Bone Joint Surg* 27:562–571.

- Starr, C.L. (1922): Acute haematogenous osteomyelitis. *Arch Surg* 4:567—587.
- Stewart, G.T. (1965): The lipases and pigments of staphylococci. *Ann NY Acad Sci* 128:132—151.
- Tanner, J.C. (1958): A problem in the combination of accident frequencies. *Biometrika* 45:331.
- Teplick, J.G.; Haskin, M.E.; Schimert, A.P. (1968): Roentgenologic diagnosis, s. 33—34. W.B. Saunders Company, Philadelphia and London.
- Thulin, K.E.; Malm, A. (1947): Försök med penicillindextran för lokal behandling av brännskador och tendovaginit. *Sv Läkartidn* 23:1238—1245.
- Towers, A.G. (1961): A hemagglutination test for anti-Panton-Valentine leukocidin in serum: an interim report on 200 cases. *J Clin Path* 14:161—163.
- Tufvesson, G. (1973), Professor, Kungl. Veterinärhögskolan, Stockholm. *Pers. med.*
- Volkman. (1875): Osteomyelitis und Nekrose. *Beitr Chir Ss.* 138 och 140.
- Waldvogel, F.A.; Medoff, G.; Swartz, M.N. (1970): Osteomyelitis: A review of clinical features, therapeutic considerations and unusual aspects. *New Engl J Med* 282:198—206.
- West, W.F., Kelly, P.J.; Martin, W.J. (1970): Chronic osteomyelitis. I. Factors affecting the results of treatment in 186 patients. *J Am Med Assoc* 213:1837—1842.
- Wiebe, T.; Belfrage, P. (1974). Interaction between ethanol oxidation and fatty acid metabolism in isolated rat liver cells. I manuskript.
- Williams Jr., R.C.; Dossett, J.H.; Quie, P.G. (1969): Comparative studies of immunoglobulin opsonins in osteomyelitis and other established infections. *Immunology* 17:249—265.
- Wissel, H. (1950): Erfahrungen über 1200 Penicillinbehandlungen aus dem Gebiet der Orthopädie unter Wiederherstellungschirurgie. *Z Orthop* 79:682—701.
- Woodin, A.M. (1959): Fractionation of a leukocidin from *Staphylococcus aureus*. *Biochem J* 73:225—237.
- Wynne, E.S.; Foster, J.W. (1950): Studies on the effects of C₁₈-unsaturated fatty acids on growth and respiration of *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*. *J Infect Dis* 86—87:33—37.

